

**DIE ADP-, SEROTONIN- INDUZIERTE UND
SPONTANE THROMBOCYTENAGGREGATION
BEI MS-PATIENTEN IM VERGLEICH
ZU PATIENTEN MIT ANDEREN
NEUROLOGISCHEN ERKRANKUNGEN**

URSULA MAIER

~~1983~~

1984

Diss
München

Aus der Neurologischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. A. Schrader

Die ADP-, Serotonin- induzierte und spontane Thrombocyten-
aggregation bei MS-Patienten im Vergleich zu Patienten mit
anderen neurologischen Erkrankungen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Ursula Maier

aus
München

Jahr
1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Schrader

Mitberichterstatter:

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.1984

Herrn Prof. Dr. A. Schrader danke ich herzlich für die freundliche Überlassung des Themas und die Möglichkeit der Arbeit an seiner Klinik.

Den Herren Dr. I. Neu und Dr. M. Prosiegel danke ich für ihre wertvollen Hinweise und für die tatkräftige und stetige Unterstützung, die zum Entstehen der Arbeit wesentlich beigetragen hat.

Herrn Thieme sei für seine Beratung in statistischen Fragen gedankt.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. HEUTIGER WISSENSSTAND	3
III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	9
1. Patientengut	9
2. Methodologie	10
2.1. induzierte Aggregation	11
2.2. spontane Aggregation	16
3. Ergebnisse	17
IV. DISKUSSION	26
V. ZUSAMMENFASSUNG	29
VI. LITERATURVERZEICHNIS	30

I. EINLEITUNG:

Pathologisch anatomisches Hauptmerkmal der multiplen Sklerose sind vorwiegend perivenös angeordnete Entmarkungsherde im Zentralnervensystem, wobei eine der wichtigsten Prädilektionsstellen das periventrikuläre Marklager darstellt. Bereits Rindfleisch beschrieb 1863 das perivenöse Verteilungsmuster der MS-Plaques (64). Im selben Jahr gelang es Charcot, Thromben in den im Zentrum von MS-Plaques gelegenen Venen nachzuweisen (19). Schließlich konnte Putnam 1937 in einer umfangreichen lichtmikroskopischen Studie an Hirnpräparaten verstorbener MS-Patienten die Befunde von Rindfleisch und Charcot bestätigen, was ihn dazu veranlasste, den venösen Thrombosen eine pathogenetische Rolle im Krankheitsgeschehen zuzuschreiben (61). Er vermutete eine globale Störung im Blutgerinnungssystem von MS-Kranken, die unter anderem zu Thrombosen kleiner Hirnvenen und damit zur (perivenösen) Plaquesbildung führen könnte. Dieser Auffassung Putnams wurde von Seiten der Neuropathologen entgegen gehalten, daß vaskuläre Störungen im ZNS mit konstanter Regelmäßigkeit eine Schädigung der Axone und nicht der Markscheiden, wie es bei der MS der Fall ist, nach sich ziehe. In der Tat spielen sich die initialen morphologischen Veränderungen beim ischämischen Hirninfarkt an den Axonen und erst später (sekundär) an den Markscheiden ab (10). Wenngleich die erwähnten Thrombosen kleiner Hirnvenen sicher nicht die alleinige Ursache der Plaquesbildung darstellen, so könnte ihnen dennoch eine pathogenetische Rolle beim multifaktoriellen Krankheitsgeschehen der MS zukommen.

Unsere Münchner Arbeitsgruppe untersucht daher seit längerem die Ursachen, die den venösen Thrombosen zugrunde liegen könnten. Da Thrombocyten bekanntlich bei Hyperkoagulationszuständen eine dominierende Rolle spielen, wurde insbesondere das Aggregationsverhalten der Thrombocyten bei MS-Kranken und gesunden Kontrollpersonen untersucht. Dabei zeigte sich, daß sowohl die spontane, als auch die ADP und

Serotonin-induzierte Thrombocytenaggregation bei MS-Kranken im Vergleich zur Kontrollgruppe, insbesondere im frischen Krankheitsschub, signifikant gesteigert waren (49,60).

Meist wurde jedoch in der Vergangenheit nur das Adhäsionsverhalten der Thrombocyten überprüft. Die Aggregation von MS-Kranken wurde unseres Wissens nur in 2 Arbeiten, jeweils mit der Methode der induzierten Thrombocytenaggregation untersucht (Couch, Hassanein, Benner, 20,9). Da sich die Ergebnisse unterschiedlich interpretieren lassen, hielten wir es für notwendig, das Aggregationsverhalten der Thrombocyten von MS-Kranken nicht nur mit gesunden Kontrollpersonen in Vergleich zu setzen, sondern auch mit einer Gruppe von Patienten mit bestimmten neurologischen Erkrankungen. In der vorliegenden Arbeit wird über die Ergebnisse der Thrombocytenaggregationsmessungen an diesen Patienten berichtet; die Ergebnisse werden anschliessend im Licht der bereits durchgeführten Aggregationsmessungen an MS-Kranken und gesunden Kontrollpersonen diskutiert.

II. HEUTIGER WISSENSSTAND

In den zahlreichen Untersuchungen über das Adhäsionsverhalten von Thrombocyten bei MS-Kranken fanden alle Autoren eine gegenüber Kontrollkollektiven gesteigerte Adhäsionstendenz (16, 22, 25, 43, 51, 67, 75). Bolton wies besonders bei Exacerbation der MS eine gesteigerte Sensitivität der Plättchen gegenüber ADP und Noradrenalin nach (11). Bemerkenswert ist hierbei auch, daß aus seiner Kontrollgruppe anderer neurologischer Erkrankungen allein bei einem Tumorpatienten die Thrombocyten ebenfalls positiv reagierten. Die Autoren Millac, Donhal, Nathanson und Sharp (44, 22, 51, 67) konnten bei ihren Thrombocytenadhäsionsuntersuchungen an MS-Patienten einen signifikanten Zusammenhang zwischen Aktivität der Erkrankung wie z.B. klinisch faßbarer Symptome bei Schüben und Ausmaß der Adhäsionssteigerung nachweisen.

Bezüglich der Ursache der Adhäsionssteigerung existieren jedoch unterschiedliche Hypothesen. Baker, Mertin, Thompson und Wright vermuten einen Zusammenhang mit den erniedrigten Konzentrationen ungesättigter Fettsäuren (z.B. Linolsäure) im Serum MS-Krankter (4, 41, 75, 77). Millar interpretiert die gesteigerte Adhäsion als Folge von beim Abbau von Nervengewebe freigesetzten Substanzen (46). Field und Caspary gehen davon aus, daß gegen Markscheidensubstanz gerichtete Antikörper direkt den Mechanismus der Agglutination auslösen (16, 25). Humphrey und Jacques vermuten eine durch Antigen-Antikörperreaktion bewirkte Serotoninfreisetzung aus den Thrombocyten als Ursache (34, 35). Ebenso wird die Hypothese der durch Antigen-Antikörperreaktion induzierten Aggregation von Movat und Thompson vertreten (48, 75). Als mögliche Antigene gelten Viren, wobei speziell gegen das Masernvirus bei MS-Kranken erhöhte Antikörpertiter nachgewiesen werden konnten (1, 57).

Außer bei MS liegen auch für verschiedene andere neurologische Krankheitsbilder, die mit der Zerstörung von Nerven-

geweben einhergehen, Untersuchungen zur Thrombocytenadhäsion vor. Bei Guillain-Barré Syndrom, Hirntumoren, Meningokokken-encephalitis, undiagnostizierten Rückenmarkserkrankungen und Schädelhirntraumen konnten Nathanson und Savitzky 1952 eine gesteigerte Thrombocytenadhäsion nachweisen (51). 1967 gelang es Millac, dieses Ergebnis für Hirntumoren zu bestätigen, wobei er eine positive Korrelation von rapider Zerstörung des Hirngewebes durch maligne Tumoren und gesteigerter Adhäsion fand. Als Ursache der erhöhten Adhäsion vermutet er hierbei Abbauprodukte von Nervengewebe wie z.B. Phospholipide (43).

Erst 1977 wurde das Aggregationsverhalten der Thrombocyten im peripheren Blut MS-Kranker genauer überprüft. Couch und Hassanein fanden eine gesteigerte ADP induzierte Aggregation bei MS-Patienten im Vergleich zu einem gesunden Kontrollkollektiv. Dabei bestand eine positive Korrelation zwischen Ausmaß der Aggregationssteigerung und der Kürze der Zeit nach dem letzten Krankheitsschub (20).

1981 gelang es auch Benner et al. einen signifikanten Zusammenhang zwischen MS und einer Steigerung der Thrombocytenaggregation nachzuweisen. Besonders in der frühen Phase der Erkrankung fand sich eine Hypersensitivität der Plättchen, die im weiteren Verlauf anscheinend wieder abnahm, aber dennoch über der gesunder Kontrollpersonen lag (9).

Charcot wies als erster 1863 das charakteristische Auftreten von Mikrothrombosen oder Plaques in Hirnpräparaten von MS-Patienten nach (19). Die gesteigerte Aggregationsneigung könnte eine mögliche Ursache für die Entstehung von Mikrothromben in den kleinen Hirngefäßen und somit letztlich der Plaquesbildung sein. Es werden mehrere Hypothesen über die Bedeutung dieser Plaques diskutiert. Einige Autoren wie z.B. Ribbert 1882, Putnam 1937, oder Swank 1961 sehen in der durch Mikrothrombosen ausgelösten Plaquesbildung die eigent-

liche Ursache der MS (63, 61, 73), wohingegen Nathanson, Field, Caspary, Sharp und Fog die Mikrothrombosen mehr als sekundäre Ereignisse einer noch unklaren Krankheitsursache interpretieren (51, 25, 17, 67, 27).

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Aktivität der MS und Ausmaß der Thrombocytenadhäsion bzw. -aggregation kann heute als gesichert gelten. Als mögliche Auslöser der Plättchen release reaction, die für den Beginn der Thrombocytenaggregation und ihrer sekundären Manifestation hinsichtlich morphologischer und biochemischer Veränderung der Plättchen verantwortlich sind, werden ähnlich wie bei der Thrombocytenadhäsion Antigen-Antikörper Komplexe (Movat, Lüscher, 48, 39), veränderte Lipidzusammensetzung des Serums (5, 33, 68, 71) und Markscheidenzerfallsprodukte wie z.B. Lysolecithine (8, 37, 43) diskutiert.

In Untersuchungen von Baker, Swank (4, 73) und anderen wurde ein Ungleichgewicht zwischen gesättigten und mehrfach ungesättigten Fettsäuren (z.B. Linolsäure) im Serum MS-Kranker festgestellt. Eine Erniedrigung des Serumspiegels mehrfach ungesättigter Fettsäuren bei MS kann als gesichert gelten (5, 45, 47, 58, 77). Swank stellte 1950 die Hypothese einer angeborenen Stoffwechselstörung als Ursache der MS auf und unternahm Therapieversuche mit der sogenannten "low fat diet". Swank, Millar und Bates (72, 46, 6) wollen mit Hilfe einer an tierischem Fett armen, aber an essentiellen Fettsäuren reichen Diät den Krankheitsprozeß bei MS signifikant beeinflußt haben. Der Erfolg dieser Diäten ist jedoch sehr umstritten. Autoren wie Heipertz, Love, Paty und Wolfgram (30, 40, 58, 76) sehen im erniedrigten Serumlinolsäurespiegel einen unspezifischen Krankheitseffekt, der auch bei anderen neurologischen oder infektiösen Erkrankungen, vorkommt. So beobachtete Gerstl eine Erniedrigung des Phospholipidspiegels sowohl bei MS-Kranken, als auch bei Patienten mit extracraniellen Tumoren oder bei Fehlernährung (28).

1963 wiesen Schrader und Schwarz in ihren Untersuchungen zum

Fettstoffwechsel im Liquor cerebrospinalis auf die besondere Rolle der veresterten Fettsäuren bei MS-Kranken hin (66). In neueren Untersuchungen gelang es Neu eine Verminderung der Fettsäuren der Cholesterinester im Liquor MS-Kranker im Gegensatz zu anderweitig neurologisch Erkrankten nachzuweisen, so daß dieser Befund als ein spezifisches Merkmal bei MS-Kranken interpretiert werden könnte (52, 55). Desweiteren konnte er einen Zusammenhang mit einer verminderten Synthese längerkettiger Fettsäuren im ZNS nachweisen (54). Dies könnte Ursache der erhöhten Aktivität von lipidspaltenden Enzymen mit anschließender Demyelinisierung sein, wobei freigesetzte Myelinscheiden zusätzlich immunpathologische Prozesse auslösen könnten (54).

Srivastava, Fog und Clausen konnten eine verminderte Prostaglandinsynthese bei MS-Kranken nachweisen, die als Ursache der Aggregationssteigerung diskutiert wird (71). Prostaglandin E_1 hemmt, Prostaglandin E_2 fördert die Thrombocytenaggregation, wobei der Effekt des PGE_1 den von PGE_2 um das 10-fache übersteigt (42, 62, 71). Eine verminderte PGE_1 Synthese würde nach Srivastava's Hypothese sich ungleich stärker auswirken, als die erniedrigte PGE_2 Konzentration und insgesamt in einer Aggregationssteigerung, wie sie bei MS-Patienten zu beobachten ist, resultieren.

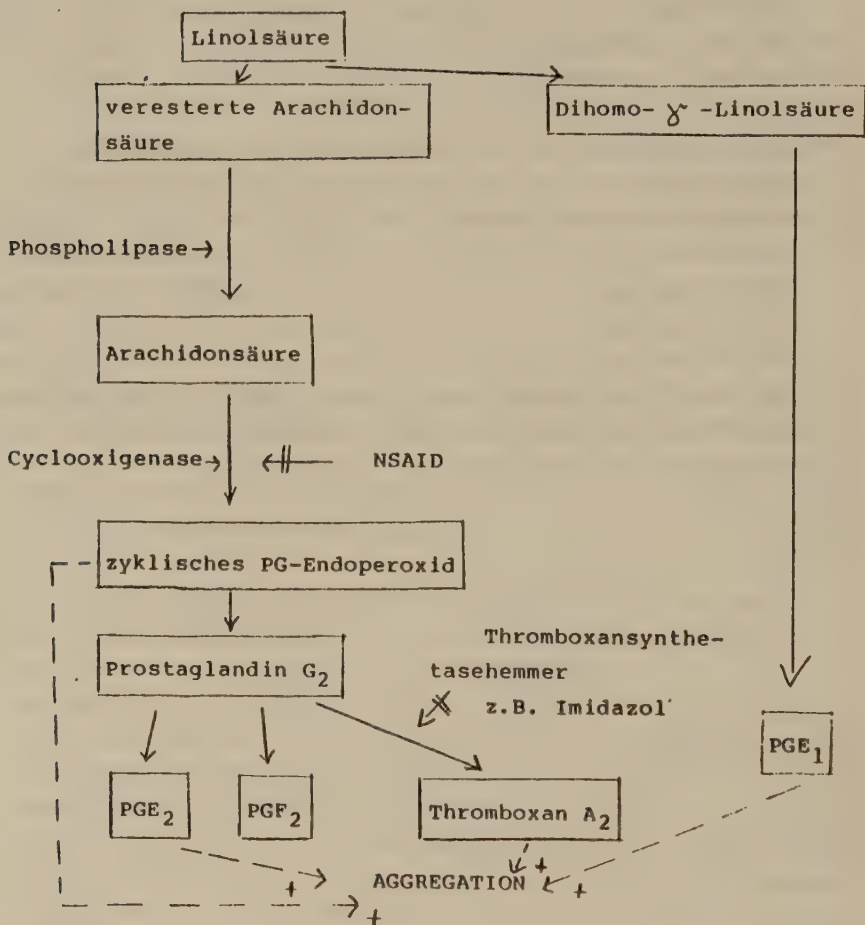
Srivastava hält als Ursache für die verminderte Prostaglandinsynthese eine virale Genese für möglich. Myxoviren, die die Fähigkeit besitzen, Thrombocyten zu invadieren, werden schon seit längerem als pathogener Faktor für MS diskutiert (1, 21, 34, 57, 71). Es ist demnach nicht auszuschließen, daß aufgrund der Vireninvasion der Stoffwechsel der Thrombocyten oder zumindest deren Oberflächenstrukturen in einer Weise modifiziert werden, die eine Aggregation begünstigen würde.

Geht man von der Prostaglandinsyntheseverminderung als Ursache für die Aggregationssteigerung und damit eventuell der Plaquesbildung aus, so ergibt sich, wie Ergebnisse der Münchner Arbeitsgruppe in Untersuchungen zum Thrombocyten-

verhalten bei MS aufzeigen, die Möglichkeit einer Beeinflussung durch Aggregationshemmer (60, 53). Über eine Hemmung der Cyclooxygenase durch z.B. Aspirin würde sowohl die Bildung des cyclischen Endoperoxyds, das ebenfalls aggregationsfördernd wirken soll, als auch die PGE_2 -Produktion vermindert und das Gleichgewicht zugunsten einer Aggregationshemmung verschoben (s. auch Abb. 1). Weitere Untersuchungen hierzu stehen noch aus.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß aufgrund der bisherigen Thrombocytenaggregations- und Adhäsionsuntersuchungen an einer gesteigerten Adhäsions- und/oder Aggregationstendenz bei MS-Patienten (verglichen mit gesunden Kontrollpersonen) keine Zweifel mehr bestehen. Diese Befunde werden jedoch unterschiedlich interpretiert, wobei zwei Extremstandpunkte genannt werden können: 1. Die Befunde sind ein (letztlich unerhebliches) Epiphänomen der Grunderkrankung MS. 2. Diese Befunde sind pathogenetisch für das Krankheitsgeschehen relevant.

Abb. 1: Vereinfachter Stammbaum der Prostaglandine und mögliche Synthese-Hemmung aggregationsfördernder Zwischen- und Endprodukte.



NSAID = nicht steroidale - antiinflammatorische Drogen

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Ziel dieser Arbeit war, die im Rahmen der Münchner Studien an MS-Patienten und gesunden Kontrollpersonen durchgeführten Untersuchungen des Aggregationsverhaltens (50) mit einem neurologischen Patientenkollektiv zu vergleichen.

1.) Patientengut

Patienten, bei deren Erkrankung ein Untergang von Nervengewebe und damit von Markscheiden zu unterstellen war, wurden nach der matched-pair Technik (gleiches Geschlecht, gleiche Rasse, gleiches Alter $\pm$ 5 Jahre) unseren bereits untersuchten MS-Patienten zugeordnet. Ausschlußkriterien waren:

Operation innerhalb des letzten Jahres,
Herzinfarkt innerhalb des letzten Jahres,
Schwangerschaft,
aktueller Infekt,
Migräne,
Urämie,
Lipämie,
Thrombocytopathie.

Darüber hinaus stellte die Therapie mit folgenden Medikamenten ein weiteres Ausschlußkriterium dar:

Antikoagulantien: Cumarinderivate, Indandione, Heparin
Antisklerotisch wirkende Substanzen: Clofibrat, Bezafibrat, Pyridinolcarbammat

Entzündungshemmer: Acetylsalicylsäure, Indometacin, Amidopyrin, Paracetamol, Phenazon, Phenylbutazon, Pyrazolon, Sulfinpyrazon, Benzindamin, Ibuprofen, Phenbufen, Floubipirofen, Meclofenamsäure, Flufenamsäure, Mefenamsäure, Naproxen.

Phenothiazine und trizyklische Psychopharmaka: Diphenhydramin Promazin, Chlorpromazin, Desme-

thylimipramin, Imipramin, Promethazin,
Nortriptylin, Amitriptylin
Vaso- und Koronardilatatoren: Pyridylcarbinol, Dipyrid-
amol, Carbochromen
Sympathicolytika: Phenolamin, Tolazolin, Propanolol,
Pronetalol
Antibiotika: Azlocillin, Carbenicillin, Ticarcillin,
Penicillin
Immunsuppressiva
Corticosteroide
desweiteren: niedermolekulare Dextrane, Valproinsäure
und Diät mit mehrfach ungesättigten
Fettsäuren.

Im einzelnen handelte es sich um 20 Patienten, deren
Krankheitsdiagnosen, Alter und Geschlecht Tab.1 im
Ergebnisteil zu entnehmen sind.

In allen Fällen war die Krankheitsdiagnose durch Befunde des
kranialen Computertomogramms, Liquoruntersuchungen, oder
Hirnszintigraphie, etc. gesichert.

2.) Methodologie

Bezüglich der Methode und Auswertung stützt sich die
folgende Untersuchung auf die in der Münchener Arbeitsgruppe
schon bei vorausgegangenen Studien angewandte Verfahrens-
weise (50).

Photometer: Eppendorf 1101 M mit Filter 546 nm

Aggregometer: Universalaggregometer der Firma Braun-
Melsungen zum Eppendorf-Photometer

Zentrifuge: Labofuge von Heraeus-Christ

Es wurden sowohl die "spontane Aggregation" (Aggregation
ohne Zugabe aggregationsauslösender Substanzen) als auch
mehrere "induzierte Aggregationen" (Aggregation nach Zugabe

aggregationsauslösender Substanzen) gemessen wie unten beschrieben. Die Messungen erfolgten im Patienten- und Normal-kollektiv zu jeweils gleichen Zeitpunkten nach Blutabnahme:

ADP-induzierte Aggregation	30 min nach Blutabnahme
Arachidonsäure-induzierte Aggr.	50 min nach Blutabnahme
Serotonin-induzierte Aggr.	70 min nach Blutabnahme
Serotonin-induzierte Aggr. nach 2 min Präinkubation mit Serotonin	80 min nach Blutabnahme
Spontane Aggregation	90 min nach Blutabnahme

Der Papiervorschub für alle Messungen betrug 1 cm/min.

Materialgewinnung:

Die Blutabnahme erfolgte mit einer grosslumigen Kanüle (Nr. 1, weiss) durch Punktion einer grossen Vene möglichst ohne Beimengung von Gewebesaft. Das Blut wurde in eine 20-ml-Kunststoffspritze langsam aufgezogen, in der 2 ml handwarmes 3,13% Na-Citrat als Antikoagulans vorgelegt waren. Nach gründlicher Durchmischung wurde es in silikonisierte Plastikröhrchen a 10 ml gefüllt, mit Parafilm abgedeckt, und bei Raumtemperatur stehengelassen.

Pro Einzelmessung wurden 5 - 10 ml Vollblut benötigt, pro Proband also ca. 40 ml.

Zur Gewinnung von plättchenreichem Plasma (PRP) wurde das Plastikröhrchen jeweils kurz vor der Messung 10 min lang bei 1000 U/min zentrifugiert.

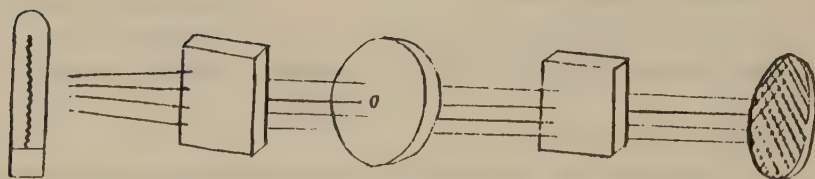
2.1.) Induzierte Aggregationen

Die Messung der induzierten Aggregationen erfolgte mit der photometrischen Methode nach Born und O'Brien in der Modifikation nach Breddin et al.(12, 15, 56).

Die Abb. 3 erläutert das Prinzip: 1 ml PRP wird in einem Messröhrchen im Strahlengang eines Photometers mittels eines Rührmagneten kräftig gerührt. Die nach Zugabe eines "Auslösers" entstehende Aggregation führt zur Änderung der

optischen Dichte des Plasmas, die mit Hilfe eines Kompensationsschreibers fortlaufend registriert wird.

Abbildung 2: Messprinzip



Lichtquelle Blende Küvette Filter 456nm Photo-
zelle

Bei den induzierten Aggregationen wurden folgende Kurventypen unterschieden (siehe dazu Abb. 4, aus der auch die verwendeten Parameter hervorgehen):

- Typ I: (Irreversible Aggregation)
sofortiger steiler Abfall der Kurve ohne Desaggregation (Normalbefund bei der Arachidonsäure-induzierten Aggregation)
- Typ II: (Irreversible Aggregation nach Desaggregation)
steiler Abfall bis zu einem Minimum, danach Wiederanstieg der Kurve (Desaggregation) mit nachfolgendem Abfall auf einen Wert unter dem vorausgehenden Minimum (2. Aggregationswelle)
- Typ III: (Reversible Aggregation)
steiler Abfall bis zu einem Minimum, danach Wiederanstieg auf einen konstantbleibenden Wert (Normalbefund bei der ADP- und Serotonin-induzierten Aggregation)

Typ IV: (Stark gehemmte Aggregation; nur bei der Serotonin-induzierten Aggregation nach Präinkubation)

- langsames Abfallen der Aggregationskurve unter kleinem Winkel

Die Messdauer betrug bei allen induzierten Aggregationen 5 Minuten.

Abbildung 3:

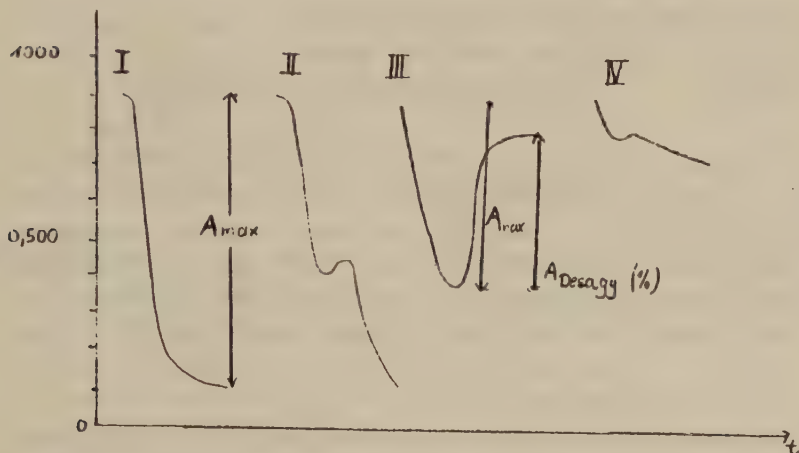


Abbildung 3: Kurventypen und Auswertungsparameter der induzierten Aggregation (verändert nach 15).

ADP-induzierte Aggregation

Zeit: 30 min nach Blutentnahme

Reagens: - Adenosindiphosphat (Boehringer, Mannheim)

$M = 427,2$

- Herstellung einer Stammlösung von (0,5 mM) ADP in destilliertem Wasser

- daraus alle 14 Tage Herstellung einer Gebrauchslösung von (50 μ M) ADP in destilliertem Wasser

Start der Aggregation durch Zugabe von 20 μ l ADP aus der Ge-

brauchslösung zu 1 ml PRP im Messröhrchen, was zu einer Endkonzentration von (1 μ M) ADP im Plasma führt.

Bei der ADP-induzierten Aggregation wurde nach (38) als Normalbefund der Kurventyp III mit einer Desaggregation - 40% gewertet. Die Typen I und II sowie Typ III mit Desaggregation $\geq$ 40% wurden als gesteigerte Aggregationen gewertet.

Arachidonsäure-induzierte Aggregation

Zeit: 50 min nach Blutabnahme
Reagens: - Arachidonsäure (Serva Biochemica)
M = 304,5
- Herstellung einer Gebrauchslösung von
(50 mM) Arachidonsäure in Methanol

Start der Aggregation durch Zugabe von 20 μ l Arachidonsäure aus der Gebrauchslösung zu 1 ml PRP in der Messküvette.

Endkonzentration im Plasma: (1 mM) Arachidonsäure

Die Arachidonsäure-induzierte Aggregation diente als Indikator, um Probanden auszuschliessen, die trotz gegenteiliger Angabe acetylsalicylsäurehaltige Medikamente eingenommen hatten. In diesem Fall fällt die Aggregationskurve nicht ab und entspräche einem Typ IV oder evtl. Typ III. Aus diesem Grund wurden nur Probanden mit dem Typ I (Normalbefund) der Arachidonsäure-induzierten Aggregation in die Studie aufgenommen.

Serotonin-induzierte Aggregation

Zeit: 70 min nach Blutabnahme
Reagens: - 5-Hydroxytryptaminsulfat (Serva Biochemica); M = 405,4
- Stammlösung von (2,5 mM) Serotonin in 0,9% NaCl
- daraus alle 14 Tage Herstellung einer Gebrauchslösung von (250 μ M) Serotonin in 0,9% NaCl

Start der Reaktion durch Zugabe von 20 μ l Serotonin aus der Gebrauchslösung zu 1 ml PRP in der Messküvette.

Endkonzentration im Plasma: (5 μ m) Serotonin

Bei der Serotonin-induzierten Aggregation wurde als Normalbefund der Kurventyp III gewertet, die Typen I und II wurden als gesteigerte Aggregation gewertet.

Serotonin-induzierte Aggregation nach Präinkubation mit Serotonin

Zeit: 80 min nach Blutabnahme

Reagens: wie oben

Bei dieser Aggregation wurde dem Plasma im Messröhrchen schon vor der Messung im Photometer 20 μ l Serotonin aus der Gebrauchslösung zugesetzt, dann wurde die Küvette einmal umgeschüttelt und 2 min ohne Rühren stehengelassen.

Nach 2 Minuten erneute Zugabe von 20 μ l Serotonin und Messablauf wie Serotonin induzierte Aggregation.

Endkonzentration im Plasma: (10 μ m) Serotonin

Normalerweise ergibt sich bei der Aggregation mit Serotonin nach Präinkubation mit Serotonin eine Kurve, die gegenüber der Kurve, die sich ohne Präinkubation ergeben hat, "gehemmt" ist. Der Begriff der Hemmung ergibt sich also aus dem Vergleich der durch einmalige SER-Zugabe induzierten Kurve mit der bei SER-Präinkubation SER-induzierten Kurve und wurde folgendermassen definiert:

- waren beide Kurven vom selben Typ, dann wurde der Quotient H aus den Amplitudenwerten A_{max} der Kurvenminima vor bzw. nach Präinkubation gebildet. Werte ≥ 1 galten als Hemmung.
- waren beide Kurven von verschiedenem Typ, so wurde es als Hemmung gewertet, wenn die Kurve nach Präinkubation einen "niedrigeren" Aggregationsgrad hatte als die vor Präinkubation; also z.B. ein Übergang von I oder II nach III oder IV.

2.2.) Spontane Aggregation

Die spontane Thrombocytenaggregation wurde mit dem photometrischen Plättchenaggregationstest (PAT III) nach Breddin et al. (14) gemessen.

Prinzip: 0,6 ml PRP rotieren mit 20 U/min in einer scheibenförmigen Kunststoffküvette im Strahlengang des Photometers (Abb. 2). Durch ein kleines Loch in der Mitte der Küvettenvorderwand kann während der Rotation CO_2 entweichen, wodurch der pH im PRP leicht ansteigt. Dies wirkt als Auslöser auf ein aggregationsbereites PRP.

Bei der spontanen Aggregation betrug die Messdauer zehn Minuten.

Es wurden zwei Kurventypen unterschieden. die Abb. 4 gibt Aufschluss über die verwendeten Parameter.

Abbildung 4

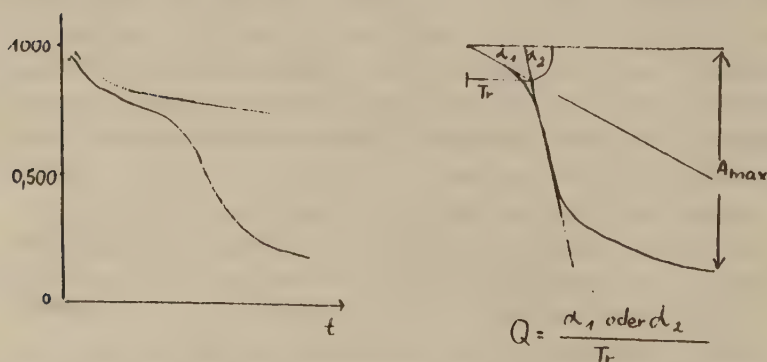


Abb. 4: Die Kurventypen und Auswertungsparameter der spontanen Aggregation (verändert nach 14)

3. Ergebnisse

Im Folgenden zeigt Tabelle 1 die Ergebnisse der an unserer Klinik durchgeführten Aggregationsmessungen an neurologisch erkrankten Patienten.

Tabelle 1:

Einzelergebnisse des neurologischen Patientenkollektivs ohne MS.

	ADP	SER	SPONT	Hemmung SER/SER
Hirninfarkt + TIA				
18, weibl.	-	-	+	+
24, weibl.	-	-	-	+
36, weibl.	+	+	+	+
47, weibl.	-	-	-	+
47, weibl.	+	+	+	-
53, weibl.	+	-	-	+
54, männl.	+	-	-	+
Hirnatrophie				
44, weibl.	+	-	+	+
* 59, weibl.	+	+	+	-
22, männl.	-	-	-	+
47, männl.	-	-	-	+
entzündliches Liquor- syndrom				
22, weibl.	-	-	-	+
26, weibl.	-	-	-	+
39, weibl.	+	-	+	+
53, weibl.	-	-	-	-

	ADP	SER	SPONT	Hemmung SER/SER
Myatrophe Lateralsklerose				
43, weibl.	-	-	-	+
Polyradikulitis				
28, weibl.	-	-	-	+
38, weibl.	+	-	+	-
Tumor				
39, männl.	+	-	+	+
Shy-Drager Syndrom				
52, männl.	-	-	-	-

* Bei dieser Patientin handelte es sich um M. Alzheimer, die restlichen Hirnatrophien waren alkoholischer Genese

+ = gesteigerte Aggregation bzw. letzte Spalte Hemmung bei der SER-induzierten Aggregation nach Präinkubation mit SER

Die Fälle von Tab. I wurden verglichen mit den folgenden Gruppen aus der Untersuchung von M. Nahme: 20 Patienten mit MS, nach den Kriterien von Rose (65) und 16 gesunde Kontrollpersonen.

Tabelle II:

Einzelergebnisse in der MS Gruppe

	ADP	SER	SPONT	Hemmung SER/SER
* 16, weibl.	+	+	+	+
* 21, weibl.	+	+	+	-
* 23, weibl.	+	+	+	-
24, männl.	-	-	-	+
* 26, weibl.	+	+	+	-
* 31, weibl.	+	-	-	+
33, weibl.	+	-	-	+
36, weibl.	-	-	-	+
38, männl.	+	+	+	-
* 42, weibl.	-	-	-	+
42, weibl.	+	+	+	+
43, weibl.	+	-	-	+
44, weibl.	-	-	-	+
46, weibl.	-	-	-	+
47, weibl.	+	+	-	+
48, weibl.	+	-	-	+
51, männl.	+	-	-	+
54, weibl.	+	+	-	+
56, weibl.	+	-	-	+
60, weibl.	-	-	-	+

* Patienten mit frischem Schub

Tabelle III:

Einzelergebnisse des Kontrollkollektivs

	ADP	SER	SPONT	Hemmung SER/SER
21, männl.	-	-	-	+
22, weibl.	+	-	-	+
23, männl.	-	-	-	+
24, weibl.	+	-	-	-
25, männl.	-	-	-	+
26, weibl.	-	-	-	+
38, männl.	+	+	+	
41, männl.	+	-	-	-
44, männl.	-	-	-	
45, männl.	-	-	-	
46, weibl.	-	-	-	
51, weibl.	+	-	-	+
51, männl.	-	-	+	
53, weibl.	+	-	-	+
55, weibl.	+	-	-	
62, männl.	-	-	-	+

Gegenüberstellung der drei Gruppen nach Fallzahl und sich daraus ergebendem prozentualen Anteil für den jeweilig durchgeführten Aggregationsmodus:

Die nach Präinkubation mit SER erneut durch SER-Zugabe ausgelöste Reaktion wurde wiederum nach Hemmbarkeit der Aggregation + bzw. fehlender Hemmbarkeit - ausgewertet (sh. auch S.15,16).

Tabelle IV:

Steigerung/Hemmung in Fallzahlen

	Kontr.	Neurolog.F.	MS gesamt	MS o.Schub	MS m. S
ADP	7	9	14	9	5
SPONT	2	8	6	2	4
SER	1	3	8	4	4
SER/SER	8	15	16	13	3

Fehlende Steigerung/fehlende Hemmung

	Kontr.	Neurolog.F.	MS gesamt	MS o.Schub	MS m. S
ADP	9	11	6	5	1
SPONT	14	12	14	12	2
SER	15	17	12	10	2
SER/SER	2	5	4	1	3

Tabelle V:

Steigerung/Hemmung in %

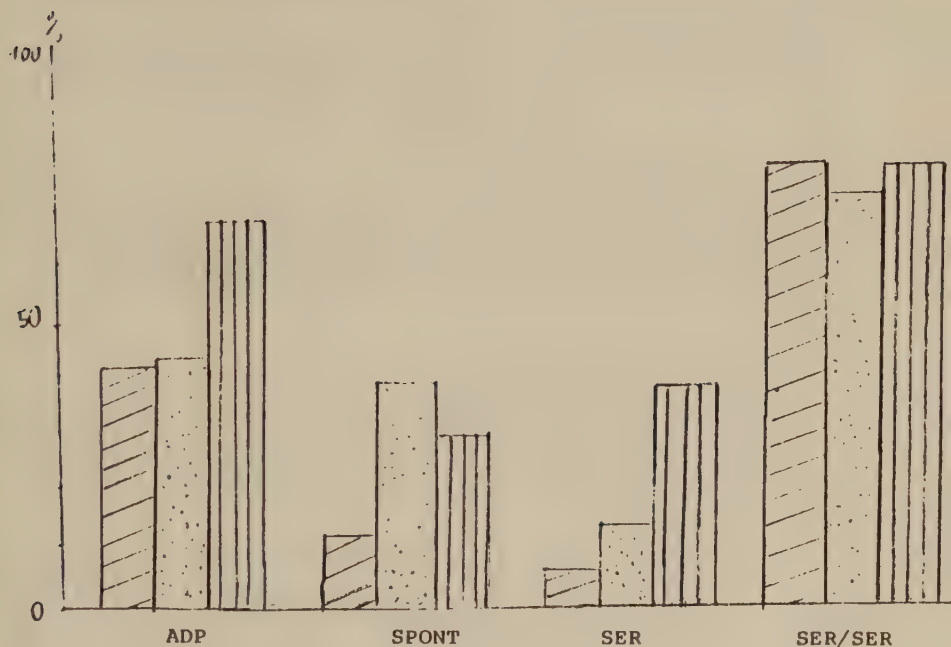
	Kontr.	Neurolog.F.	MS gesamt	MS o.Schub	MS m. S
ADP	44	45	70	64	83
SPONT	12	40	30	14	67
SER	6	15	40	29	67
SER/SER	80	75	80	93	50

Fehlende Steigerung/fehlende Hemmung in %

	Kontr.	Neurolog.F.	MS gesamt	MS o.Schub	MS m. S
ADP	56	55	30	36	17
SPONT	88	60	70	86	33
SER	94	85	60	71	33
SER/SER	20	25	20	7	50

Tabelle VI:

Prozentuale graphische Gegenüberstellung der Patienten -
Gruppen für: Steigerung/Hemmung



= Kontrolle



= neurologische Fälle



= MS gesamt

Die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse nach der 2i-Statistik für kleine Stichproben ergibt für den 3-fach Vergleich mit 2 Freiheitsgraden (Kontrollen - neurologische Fälle - MS-Fälle gesamt) folgende Ergebnisse auf dem Signifikanzniveau $p \ 0,05$:

ADP	3,4563
SER	6,8827
SER/SER	0,1732
SPONT	3,5945

Eine signifikante Steigerung der Thrombocytenaggregation auf dem 5 % Niveau zeigt allein die SER induzierte Aggregation. Hierbei entfällt der größte Chi-Quadrat Anteil auf die MS - Fälle.

Es läßt sich somit feststellen:

- Die MS-Fälle zeichnen sich durch eine gesteigerte Serotonin induzierte Aggregation gegenüber den neurologischen Fällen und den gesunden Kontrollen aus.
- Die ADP induzierte Aggregationssteigerung scheint als klinisch relevanter Parameter für neurologische Krankheitsbilder ungeeignet zu sein, da eine statistische Signifikanz im Vergleich zur Kontrollgruppe oder den neurologischen Gruppen nicht nachweisbar war. Zwar scheint die MS-Gruppe zu einer erhöhten Aggregationsrate bei Induktion mit ADP zu tendieren, aber es läßt sich dabei, möglicherweise aufgrund der geringen Anzahl von Versuchspersonen, keine eindeutige Aussage treffen. Auch wird gerade die ADP induzierte Reaktion von einer Vielzahl von Faktoren wie z.B. Rauchen, Arteriosklerose, etc. beeinflusst (3,49), so daß die Spezifität dieses Befundes relativ gering sein dürfte.
- Für die Spontanaggregationsrate und die Aggregation nach Präinkubation (SER/SER) ließ sich eben-

falls kein signifikanter Unterschied zwischen den
3 verglichenen Gruppen aufzeigen.

Bemerkenswert bleibt, daß sich in dieser Studie die Sonderstellung der SER induzierten Aggregation bei MS gegenüber anderen neurologischen Erkrankungen zu bestätigen scheint.

V. DISKUSSION:

Es kann heute als gesichert gelten, daß das Auftreten der für MS typischen Plaques im Gehirn mit Mikrothrombosen kleiner Gehirnvenen beginnt (19, 63, 61, 23, 27), wobei dieser Befund unterschiedlich interpretiert wird. Einige Autoren sehen in ihm die Ursache für die Plaquesbildung der MS (19, 63, 41), andere Autoren interpretieren diesen Befund als sekundäres Phänomen einer noch nicht eindeutig geklärten Krankheitsursache der MS (17, 25, 46, 51, 67, 27). Große Bedeutung kommt bei der Entstehung der Mikrothrombosen zweifellos den Thrombocyten zu. Ihr Verhalten speziell bei MS-Kranken war der Gegenstand zahlreicher Studien. Neuere Untersuchungen der Thrombocytenaggregation konnten die Befunde einer gesteigerten Plättchensensitivität bestätigen (9, 20).

In unserer Arbeitsgruppe wurden hierbei die spontane Aggregation und die mit ADP oder SER induzierte Aggregation untersucht (50). Während bei der ADP induzierten Aggregation die statistische Signifikanz im Vergleich MS-Gruppe zu gesunder Kontrollgruppe knapp verfehlt wurde, ergab sich eine eindeutige Steigerung der Thrombocytenaggregation von MS-Kranken bei Induktion mit SER. Um diesen Befund weiter abzuklären wurde in der hier vorliegenden Studie der MS-Gruppe und der gesunden Kontrolle ein Kollektiv anderer neurologischer Erkrankungen gegenübergestellt, bei denen davon ausgegangen werden kann, daß im Krankheitsprozess ebenfalls Markscheidensubstanz zerstört wird. In dieser Untersuchung ließ sich bestätigen, daß die gesteigerte Serotoninempfindlichkeit der Plättchen ein für MS typisches Phänomen sein könnte. Im Dreifachvergleich MS-Kranke, neurologische Fälle, Kontrollen ergab sich nur für die Serotonin induzierte Aggregation ein signifikantes Ergebnis ($p = 0,05$).

Serotonin, das einer der Auslöser von Thrombocytenaggregation ist, wird beim Menschen vor allem in den Blutplättchen selbst gespeichert (29). Es kommt jedoch auch in bestimmten

Hirnstrukturen vor und besitzt zum Teil eine Funktion als Neurotransmitter, wie neuere Forschungen belegen (69). In Gehirnstrukturen mit hohem Gehalt an SER, wie z.B. in der Nähe des Ventrikelependyms, sind auch häufig die Plaques MS-Kranker lokalisiert. Eine erhöhte SER-Ausschüttung und/oder eine gesteigerte Empfindlichkeit der Thrombocyten gegenüber Serotonin, könnte Ursache für Mikrothrombosen in kapillären Venolen sein und somit für die Entstehung von Plaques verantwortlich sein oder sie zumindest begünstigen.

Die Wirkungsweise des Serotonins an den Thrombocyten wurde von Pletscher, Baumgartner, Born, Hilton und Cumings genauer untersucht (59, 7, 8, 31, 32). Man erklärt sich den Wirkungsmechanismus wie folgt: SER lagert sich an SER-spezifische oberflächliche Rezeptoren der Thrombocyten an. In einem weiteren Schritt wird es, durch aktiven Transport am als Carrier wirkenden Rezeptor gebunden, in die Zelle eingeschleust. Dabei wird ADP freigesetzt, das eventuell Voraussetzung für das Stattfinden von Aggregation ist. Der Rezeptor wird durch Dissoziation zurückgewonnen und wandert erneut an die Außenmembran. Die SER-induzierte Aggregation läuft abhängig von der vorhandenen Anzahl freier Rezeptoren ab.

Nur solange aktive Aufnahme möglich ist, kann eine erhöhte Aggregation vorliegen (8). Besetzte SER-Rezeptoren haben somit einen membranstabilisierenden Effekt. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, daß sich die Aggregationsbereitschaft bei Gesunden indirekt proportional zum SER-Plasmaspiegel verhält.

Aufbauend auf diese Befunde stellten Hilton und Cumings ihre Hypothese auf, daß die Anzahl der besetzten SER-Rezeptoren positiv mit dem SER-Gehalt der Plättchen korreliert. Bei gefüllten Speicherorganellen der Thrombocyten, staut sich SER im Zellplasma auf, der Einwärtstransport nimmt ab, die Anzahl der pro Zeiteinheit frei werdenden Rezeptoren vermindert sich. Daraus müßte nach den obigen Ausführungen zwangsläufig eine Abnahme der Aggregationsbereitschaft resultieren.

Aus der Arbeit von Hilton und Cumings ließe sich somit folgern, daß MS-Kranke möglicherweise aufgrund eines geringeren Gehalts an SER in den Speicherorganellen mehr freie Rezeptorstellen an der Außenmembran besitzen. Dieser Erklärungsversuch der von uns beobachteten Aggregationssteigerung ließe sich auch mit Befunden von Caspary und Fields vereinbaren, die bei Antigen-Antikörper-Reaktionen im Serum eine verstärkte Freisetzung von SER aus den Plättchen MS-Kranker im Vergleich zu gesunden Kontrollen beobachteten (17). Erhöhte Antikörpertiter, auch gegenüber Hirnextrakt und dessen Derivate konnte bei MS schon mehrfach nachgewiesen werden und ein Vorkommen autoimmunologischer Prozesse im komplexen Krankheitsverlauf der MS ist nicht auszuschließen (18, 24, 54, 74). Dies könnte eine Entleerung der Speicherorganellen bewirken und Ursache des daraus folgenden geringeren SER-Gehalts der Thrombocyten bei gleichzeitig gesteigerter Aggregationsbereitschaft von MS-Kranken sein.

Die gesteigerte Sensitivität der Plättchen MS-Kranker gegenüber SER ließe sich jedoch auch als Folge einer erhöhten Anzahl von SER-Rezeptoren der Thrombocyten oder sekundär als Folge vermehrter SER-Freisetzung aus geschädigter Hirnstruktur interpretieren. Was immer die Ursache der SER-induzierten Aggregationssteigerung sein mag, ob es sich bei dem Ergebnis unserer Studie um einen für MS pathognomonischen Befund handelt, der möglicherweise für die Plaquesentstehung verantwortlich sein könnte, bleibt abzuwarten.

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Eine Erhöhung der Adhäsions- und Aggregationsbereitschaft von Thrombocyten MS-Kranker kann heute als gesichert gelten. In dieser Studie wurde die ADP- und Serotonin-induzierte Aggregation ebenso wie die Spontanaggregation mit der photometrischen Methode nach Born und Breddin an einem neurologischen Krankenkollektiv gemessen und einem MS-Kollektiv und gesunden Kontrollen gegenübergestellt.

Hierbei konnte der Befund einer Sonderstellung der Serotonin-induzierten Aggregation bei MS bestätigt werden. Für die ADP-induzierte und spontane Aggregation konnte kein signifikanter Unterschied im Dreifachvergleich neurologische Fälle - MS-Fälle - Kontrollen gefunden werden.

Über die Ursache der gesteigerten Serotonin-Aggregation sind bis jetzt nur Spekulationen möglich. Es kann sich hierbei um ein pathognomonisches Phänomen bei MS handeln. Es ist aber auch eine sekundäre Induktion von Aggregation denkbar, zum Beispiel durch die veränderte Fettsäurezusammensetzung, wie sie an unserer Klinik in mehreren Untersuchungen an MS-Patienten nachgewiesen werden konnte. Die mögliche Rolle einer "Serotoninüberempfindlichkeit" der Thrombocyten bei Pathogenese und Verlauf von multipler Sklerose wird diskutiert.

VII. LITERATURVERZEICHNIS

1. Adams JM, Imogawa DT
Measles antibodies in multiple sclerosis
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. III: 562 (1962)
2. Ammitzball T, Clausen J., Fog T
Family studies of MS on viral etiology
in Multiple Sclerosis Hrsg.: Field EJ, Bell TM,
Carnegie PR, North Hall Publishing Company,
Amsterdam (1972)
3. Ashby p.
Letter to the editor
Lancet: 158 (1965)
4. Baker RWR, Thompson RHS, Zilkha SKJ
Serum fatty acids in multiple sclerosis
Brit. J. Neurosurg. Psychiat. 27: 408 (1964)
5. Baker RWR, Thompson RHS, Zilkha KJ,
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 28: 212 - 214 (1965)
6. Bates D, Fawatt PRW, Shaw DA, Weightman D
Polyunsaturated fatty acids in treatment of acute
remitting multiple sclerosis
Brit. Med. J. 2: 1390 - 1391 (1978)
7. Baumgartner HR
5-HT uptake and release in relation to aggregation of
rabbit platelets
J. Physiol. (London) 201: 409 - 423 (1969)
8. Baumgartner HR, Born GVR
Effects of 5-HT on platelet aggregation
Nature 218: 137 - 141 (1968)

9. Benner KU, Burstedde V, Swank RL
Platelet hyperaggregability in multiple sclerosis
Bibliotheka anatomica, Karger (Basel) 20:
313 - 317 (1981)
10. Blackwood W., Corsellis J. (Hrsg.)
Greenfields neuropathology
Edw. Arnold Publishers Ltd., London, 3. Auflage (1976)
11. Bolton CH, Hampton JR, Phillipson OT
Platelet behaviour and plasma phospholipids in
multiple sclerosis
Lancet 99 - 104 (1968)
12. Born GVR
Aggregation of blood platelets by ADP and its reversal
Nature 194: 927 - 929 (1962)
13. Breddin K, Grun H., Krzywanek HJ., Schremmer WP
Zur Messung der spontanen Thrombocytenaggregation
PAT III, Methodik
Klin. Wochenschrift 53: 81 - 89 (1975)
14. Breddin K., Grun H., Krzywanek HJ., Schremmer WP.
On the measurement of spontaneous platelet aggregation,
PAT III
Thrombosis and Haemostasis, 35 (1976)
15. Breddin K., Krzywanek HJ., Ziemer J., Bauer H., Grun H.,
Enhanced platelet aggregation as a risk factor for
progress and complications of vascular disease. New
findings with platelet aggregation test (PAT III) and
on the dependence of different aggregation tests on
morphologic platelet changes
In: Agnoli A., Faszió C., (Hrsg.): Platelet aggregation
in the pathogenesis of cerebrovascular disorders
Springer; Berlin, Heidelberg, New York, 44 - 62 (1977)

16. Caspary EA., Prineas J., Miller H., Field EJ.,
Platelet stickiness in multiple sclerosis
Lancet II, 1108 - 1109 (1965)
17. Caspary EA., Field EJ.,
Serotonin release from blood platelets in multiple
sclerosis
Dt. Zeitschrift f. Nervenheilkunde 190: 267 - 272
(1967)
18. Caspary EA.,
Humoral factors involved in immune processes in
multiple sclerosis and allergic encephalomyelitis
Brit. Med. Bull. 33: 50 - 53 (1977)
19. Charcot JM.,
Histologie de la sclérose en plaques
Gaz. Hôp., Paris 41 (1868)
20. Couch JR., Hassanein RS.
Platelet hyperaggregability in multiple sclerosis
Transact. Am. Neurol. Assoc. 102: 62 - 64 (1977)
21. Danon D., Jerushalmy Z., de Vries A.,
Incorporation of influenza virus in human blood
platelets in vitro. Electron microscopical observation
Virology 9: 719 - 722 (1959)
22. Donhal K., Vágner B., Lupínek Z., Hule V.,
Untersuchung des Thrombocyten - Adhäsions - Index bei
Multipler Sklerose
Zeitschrift f. die ges. Innere Medizin 25 (12):
558 - 561 (1970)
23. Dow RS, Berglund G
Vascular pattern of lesions in multiple sclerosis
Arch. Neurol. Psychiat. 47: 1 - 11 (1942)

24. Field EJ., Caspary EA., Bull EJ.,
Some biological properties of a highly purified
encephalitogenic factor isolated from human brain
Lancet II, 11 (1963)
25. Field EJ., Caspary EA.,
Behaviour of blood platelets in multiple sclerosis.
Some observations with a possible bearing on
pathogenesis
Lancet II: 876 - 879 (1964)
26. Fog T., Kristensen J., Helweg-Larsen HF.,
Blood platelets in disseminated sclerosis
Arch. neurol. scand. 73, 267 (1955)
27. Fog T.,
On the vessel-plaque-relationship in the brain in
multiple sclerosis
Acta Neurol. Scand., Suppl. 10: 40 9 (1964)
28. Gerstl B., Kahnke MJ., Smith JK., Tavastjerna MG.,
Hayman RB.
Brain lipids in multiple sclerosis and other diseases
Brain 84: 310 (1961)
29. Hardisty R., Stacey RS.
5-HT in normal human platelets
J. Physiol. (London) 130: 711 - 720 (1955)
30. Heipertz R., Klaike W., Pilz H., Ritter G.,
Serum fatty acids in multiple sclerosis
J. Neurol. 214: 153 - 157 (1977)
31. Hilton BP., Cumings JN.
An assessment of platelet aggregation induced by 5-HT
J. Clin. Tath. 24: 250 - 258 (1971)

32. Hilton BP., Cumings JN.,
5-HT levels and platelet aggregation responses in
subjects with acute migraine headaches
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 35: 505 - 509 (1972)

33. Hoak JC., Spector AA., Fry GL., Barnes BC.
Localization of free fatty acids taken up by human
platelets
Blood, 40 No 1, 16 - 22 (1972)

34. Humphrey JH., Jaques R.,
Liberation of histamin and Serotonin from platelets by
antigen-antibody reactions in vitro
J. Physiol. (London) 119, 43 (1953)

35. Humphrey JH., Jaques R.
The release of histamine and 5-HT from platelets by
antigen-antibody reactions (in vitro)
J. Physiol. (London) 128: 9 (1955)

36. Jerushalmy Z., Kohn A., de Vries A.
Interactions of myxoviruses with human blood platelets
in vitro
Proc. Soc. Exp. Biol. (New York) 106: 462 (1961)

37. Kerr JW., Pirrie R., Mc Auley J., Bronte-Stewart B.
Platelet aggregation by phospholipids and free fatty
acids
Lancet I: 1296 (1965)

38. Krzywanek HJ., Grun H., Breddin K.
Thrombocytenfunktionstest
In: Englhardt, Lommel, Roka, Ohler (Hrsg.): Method.
Fortschritte im med. Laboratorium, Bd. 4, Diagnostik
häorrhagischer Diathesen
Vlg. Chemie GmbH, Weinheim, 131 - 158

39. Lüscher
In: Round the table conference on normal and modified
platelet aggregation
Acta medica scand. Suppl. 525 (1971)
40. Love WC., Cashel A., Reynolds M., Callaghan N.
Linoleate and fatty acid pattern of serum lipids in
multiple sclerosis and other diseases
Brit. Med. J. 18 (1974)
41. Mertin J., Meade CJ.
Relevance of fatty acids in multiple sclerosis
Brit. Med. Bull. 33: 67 - 71 (1977)
42. Mickel HS., Horbar J.
The effect of peroxidized arachidonic acid upon
human platelet aggregation
Lipids 9 (2): 68 - 71 (1974)
43. Millac P.
Platelet stickiness in patients with intracranial
tumors
Brit. Med. J. 4: 25 - 26 (1967)
44. Millac P.
Platelet stickiness in multiple sclerosis
Dt. Zeitschr. f. Nervenheilkunde 191: 74 - 79 (1967)
45. Millar JHD., Zilkha KJ., Langmann MJS., Payling W.,
Right H., Smith AD.
Double Blind trial of linoleate supplementation of
the diet in multiple sclerosis
Brit. Med. J. 1: 765 (1973)
46. Millar JHD., Merrett JD., Dalby AM.
Platelet stickiness in multiple sclerosis
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 29: 187 - 189 (1966)

47. Montfoort A., Baker RWR., Thompson RIIS., Zilkha KJ.
Plasma phospholipids and their fatty acid composition
in multiple sclerosis
J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 29: 99 (1966)
48. Movat HZ., Mustard JF., Taichman NS., Uriuhara T.
Platelet aggregation and release of ADP, Serotonin
and Histamin associated with phagocytosis of antigen-
antibody complexes
Proc. Soc. Exp. Biol. (New York) 120: 232 (1965)
49. Mustard JF., Murphy EA.
Effect of smoking on blood coagulation and platelet
survival in man
Brit. Med. J. 5334: 846 - 849 (1963)
50. Nahme M.
Thrombozyten Aggregation und MS, experimentelle
Untersuchung zur Bedeutung der Thrombozyten Aggregation
in der Pathogenese der MS
Dissertation (1983) im Druck
51. Nathanson M., Savitsky JP.
Platelet adhesive index studies in multiple sclerosis
and other neurologic disorders
Bull. N.Y. Acad. Med. 28: 462 - 468 (1952)
52. Neu J.
Essentielle Fettsäuren in Serum und Liquor
cerebrospinalis bei Patienten mit Multiple Sklerose
Nervenarzt 52: 100 - 107 (1981)
53. Neu J., Prosiegel M.
Thrombocytenaggregation und Multiple Sklerose
Acta Neurologica Scandinavia 66: 497 - 504 (1982)

54. Neu J., Woelk H.
Investigation of the lipid metabolism of the white matter in Multiple Sclerosis
Neurochemical Research Vol. 7 No. 6 (1982)
55. Neu J.
Essential fatty acids in the serum and cerebrospinal fluid of Multiple Sclerosis patients
Acta Neurol.Scand. 67: 151 - 163 (1983)
56. O'Brien JR.
Platelet aggregation II. Some results from a new method of study
J. Clin Path. 15: 452 - 455 (1962)
57. Offner H., Ammitzboll T., Clausen J.
The occurrence of measles antigen precipitating antibodies in sera from patients with multiple sclerosis and their relatives
Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. B, 81: 157 (1973)
58. Paty DW., Cousin HK., Mc Donald LE.
Linolenic acid in multiple sclerosis
Lancet I: 1197 - 1198 (1975)
59. Pletscher A.
Metabolism, transfer and storage of 5-HT in blood platelets
Brit. J. Pharmac. and Chemotherapy 32: 1 - 16 (1968)
60. Prosiegel M., Neu J., Pfaffenrath V., Nahme M.
Thrombocytenaggregation und Multiple Sklerose
Nervenarzt 53: 227 - 230 (1982)

61. Putnam TI.
Evidences of vascular occlusion in multiple sclerosis
and "Encephalomyelitis"
Arch. Neurol. Psychiat. 37: 1298 - 1321 (1937)
62. Reuter D.
Blutplättchen
Zeitschr. f. Allgemeinmedizin 6: 311 - 319 (1983)
63. Ribbert H. von
Über die Multiple Sklerose des Gehirns und
Rückenmarks
Virchows Arch. Path. Anat. 90: 243 - 260 (1882)
64. Rindfleisch E.
Histologisches Detail zur grauen Degeneration von
Gehirn und Rückenmark
Virchows Arch. 26: 474 (1863)
65. Rose AS., Ellison GW., Myers LW., Tourtellotte WW.
Criteria for the clinical diagnosis of multiple
sclerosis
Neurology 26: 20 - 22 (1976)
66. Schrader A., Schwarz K.
Fettstoffwechsel im Liquor cerebrospinalis
Münchener Med. Wschr. 50: 2493 - 2500 (1963)
67. Sharp AA.
Platelets in multiple sclerosis
Lancet II: Letter to the editor (1965)
68. Shore PA., Alpers HS.
Platelet damage induced in plasma by certain fatty
acids
Nature 200: 1331 - 1332 (1963)

69. Sicuteri F., Schönbaum E.
Why clinical pharmacology of SER
In: Clinical Pharmacology of Serotonin,
Hrsg. Sicuteri F., F. und E. Schönbaum, Monographs in
neural sciences Vol 3,
Kager, Basel München 1 - 7 (1976)
70. Siess W., Scherer B., Böhling B., Roth P.,
Kurzmann J., Weber PC.
Platelet-membrane fatty acids, platelet aggregation
and thromboxane formation during a mackerel diet
Lancet I, 441 - 444 (1980)
71. Srivastava KC., Fog T., Clausen J.
The synthesis of prostaglandins in platelets from
patients with multiple sclerosis
Acta Neurol. Scand. 51: 193 - 199 (1975)
72. Swank RL.
Multiple sclerosis: A correlation of its incidence
with dietary fat
Am. J. Med. Sci. 220: 421 - 430 (1950)
73. Swank RL.
A biochemical basis of multiple sclerosis
Am Lect. Ser. Publ. Nr. 417, Springfield Ill.,
Thomas (1961)
74. Thompson EJ.
Immunological and biochemical diagnosis
Brit. Med. Bull. 33: 28 - 33 (1977)
75. Thompson RHS.
A biochemical approach to the problem of multiple
sclerosis
Proc. R. Soc. Med. 59: 269 (1966)

76. Wolfgram F., Myers J., Knipprath W., Ellison L.
Serum linolenic acid in multiple sclerosis
Neurology 25: 786 - 788 (1975)
77. Wright HP., Thompson RHS., Zilkha KJ.
Platelet adhesiveness in multiple sclerosis
Lancet II: 1109 - 1110 (1965)

LEBENS LAUF

Am 14.12.58 wurde ich in München als Tochter des Regierungsdirektors Dr.jur. Alfred Maier und seiner Ehefrau Dr.med. Erika Maier, geb. Gallinger, geboren.

Von 1965 bis 1969 besuchte ich die Volksschule und anschließend bis 1978 das staatliche Neusprachliche Gymnasium Max-Josef-Stift in München. 1978 legte ich das Abitur für die reformierte gymnasiale Oberstufe (Kollegstufe) ab und begann im Wintersemester 1978 das Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München. Im August 1980 nahm ich an der ärztlichen Vorprüfung, im August 1981 an der 1. ärztlichen Prüfung und im August 1983 an der 2. ärztlichen Prüfung teil. Ich hoffe, mein Studium im 2. Halbjahr 1984 beenden zu können.

